This is a digital copy of a book that was preserved for generations on library shelves before it was carefully scanned by Google as part of a project to make the world's books discoverable online.

It has survived long enough for the copyright to expire and the book to enter the public domain. A public domain book is one that was never subject to copyright or whose legal copyright term has expired. Whether a book is in the public domain may vary country to country. Public domain books are our gateways to the past, representing a wealth of history, culture and knowledge that's often difficult to discover.

Marks, notations and other marginalia present in the original volume will appear in this file - a reminder of this book's long journey from the publisher to a library and finally to you.

Usage guidelines

Google is proud to partner with libraries to digitize public domain materials and make them widely accessible. Public domain books belong to the public and we are merely their custodians. Nevertheless, this work is expensive, so in order to keep providing this resource, we have taken steps to prevent abuse by commercial parties, including placing technical restrictions on automated querying.

We also ask that you:

+ *Make non-commercial use of the files* We designed Google Book Search for use by individuals, and we request that you use these files for personal, non-commercial purposes.

+ *Refrain from automated querying* Do not send automated queries of any sort to Google's system: If you are conducting research on machine translation, optical character recognition or other areas where access to a large amount of text is helpful, please contact us. We encourage the use of public domain materials for these purposes and may be able to help.

+ *Maintain attribution* The Google "watermark" you see on each file is essential for informing people about this project and helping them find additional materials through Google Book Search. Please do not remove it.

+ *Keep it legal* Whatever your use, remember that you are responsible for ensuring that what you are doing is legal. Do not assume that just because we believe a book is in the public domain for users in the United States, that the work is also in the public domain for users in other countries. Whether a book is still in copyright varies from country to country, and we can't offer guidance on whether any specific use of any specific book is allowed. Please do not assume that a book's appearance in Google Book Search means it can be used in any manner anywhere in the world. Copyright infringement liability can be quite severe.

About Google Book Search

Google's mission is to organize the world's information and to make it universally accessible and useful. Google Book Search helps readers discover the world's books while helping authors and publishers reach new audiences. You can search through the full text of this book on the web at `http://books.google.com/`

Über dieses Buch

Dies ist ein digitales Exemplar eines Buches, das seit Generationen in den Regalen der Bibliotheken aufbewahrt wurde, bevor es von Google im Rahmen eines Projekts, mit dem die Bücher dieser Welt online verfügbar gemacht werden sollen, sorgfältig gescannt wurde.

Das Buch hat das Urheberrecht überdauert und kann nun öffentlich zugänglich gemacht werden. Ein öffentlich zugängliches Buch ist ein Buch, das niemals Urheberrechten unterlag oder bei dem die Schutzfrist des Urheberrechts abgelaufen ist. Ob ein Buch öffentlich zugänglich ist, kann von Land zu Land unterschiedlich sein. Öffentlich zugängliche Bücher sind unser Tor zur Vergangenheit und stellen ein geschichtliches, kulturelles und wissenschaftliches Vermögen dar, das häufig nur schwierig zu entdecken ist.

Gebrauchsspuren, Anmerkungen und andere Randbemerkungen, die im Originalband enthalten sind, finden sich auch in dieser Datei – eine Erinnerung an die lange Reise, die das Buch vom Verleger zu einer Bibliothek und weiter zu Ihnen hinter sich gebracht hat.

Nutzungsrichtlinien

Google ist stolz, mit Bibliotheken in partnerschaftlicher Zusammenarbeit öffentlich zugängliches Material zu digitalisieren und einer breiten Masse zugänglich zu machen. Öffentlich zugängliche Bücher gehören der Öffentlichkeit, und wir sind nur ihre Hüter. Nichtsdestotrotz ist diese Arbeit kostspielig. Um diese Ressource weiterhin zur Verfügung stellen zu können, haben wir Schritte unternommen, um den Missbrauch durch kommerzielle Parteien zu verhindern. Dazu gehören technische Einschränkungen für automatisierte Abfragen.

Wir bitten Sie um Einhaltung folgender Richtlinien:

+ *Nutzung der Dateien zu nichtkommerziellen Zwecken* Wir haben Google Buchsuche für Endanwender konzipiert und möchten, dass Sie diese Dateien nur für persönliche, nichtkommerzielle Zwecke verwenden.

+ *Keine automatisierten Abfragen* Senden Sie keine automatisierten Abfragen irgendwelcher Art an das Google-System. Wenn Sie Recherchen über maschinelle Übersetzung, optische Zeichenerkennung oder andere Bereiche durchführen, in denen der Zugang zu Text in großen Mengen nützlich ist, wenden Sie sich bitte an uns. Wir fördern die Nutzung des öffentlich zugänglichen Materials für diese Zwecke und können Ihnen unter Umständen helfen.

+ *Beibehaltung von Google-Markenelementen* Das "Wasserzeichen" von Google, das Sie in jeder Datei finden, ist wichtig zur Information über dieses Projekt und hilft den Anwendern weiteres Material über Google Buchsuche zu finden. Bitte entfernen Sie das Wasserzeichen nicht.

+ *Bewegen Sie sich innerhalb der Legalität* Unabhängig von Ihrem Verwendungszweck müssen Sie sich Ihrer Verantwortung bewusst sein, sicherzustellen, dass Ihre Nutzung legal ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass ein Buch, das nach unserem Dafürhalten für Nutzer in den USA öffentlich zugänglich ist, auch für Nutzer in anderen Ländern öffentlich zugänglich ist. Ob ein Buch noch dem Urheberrecht unterliegt, ist von Land zu Land verschieden. Wir können keine Beratung leisten, ob eine bestimmte Nutzung eines bestimmten Buches gesetzlich zulässig ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass das Erscheinen eines Buchs in Google Buchsuche bedeutet, dass es in jeder Form und überall auf der Welt verwendet werden kann. Eine Urheberrechtsverletzung kann schwerwiegende Folgen haben.

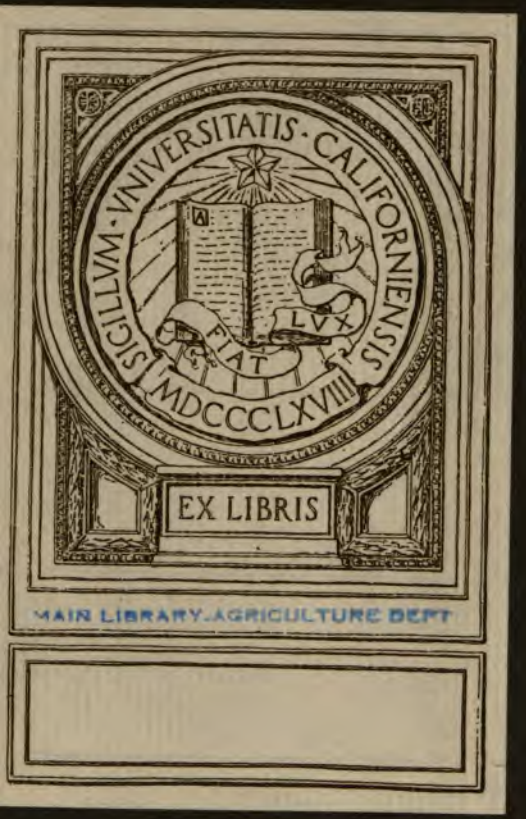
Über Google Buchsuche

Das Ziel von Google besteht darin, die weltweiten Informationen zu organisieren und allgemein nutzbar und zugänglich zu machen. Google Buchsuche hilft Lesern dabei, die Bücher dieser Welt zu entdecken, und unterstützt Autoren und Verleger dabei, neue Zielgruppen zu erreichen. Den gesamten Buchtext können Sie im Internet unter `http://books.google.com` durchsuchen.

SF
253
F45
S

YC 20678

Digitized by Google



MAIN LIBRARY-AGRICULTURE DEPT

Digitized by Google

UNIV. OF CALIFORNIA

Wie vollzieht sich die

spontane Zersetzung der Milch

bei 40—44° C., besonders bei 42°,

und welche Organismen sind dabei betheiligt?

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde

der

Hohen philosophischen Fakultät der Georg-Augusts-Universität

zu Göttingen

vorgelegt von

Meade Ferguson,
aus Appomattox, Va. U.S. Am.

Göttingen 1902.

Druck der Dieterich'schen Univ.-Buchdruckerei
(W. Fr. Kaestner).

Digitized by Google

SF253
F45

UNIV. OF
CALIFORNIA

Main Lib.
Agric. Dept.

Tag der mündlichen Prüfung: 25. Febr. 1902.

Referent: Herr Geh. Rat Prof. Dr. Fleischmann.

Digitized by Google

Seinem früheren Lehrer

Prof. D. O. Nourse

gewidmet

vom Verfasser.

Digitized by Google

Nachstehende Dissertation ist im bacteriologischen Laboratorium des landwirtschaftlichen Instituts zu Göttingen angefertigt. Es sei mir gestattet, Herrn Geh. Rat Prof. Dr. Fleischmann und seinem früheren Assistenten Herrn Dr. Schöne für die Unterweisung, die diese beiden Herren mir bei der Anfertigung der Arbeit in liebenswürdigster Weise gegeben haben, meinen besten Dank auszusprechen.

Digitized by Google

Man hat schon verhältnismässig früh erkannt, dass die Zersetzung organischer Stoffe, die Zucker enthalten, durch die Einwirkung gewisser niederer pflanzlichen Organismen, wie Bacterien oder Hefen, hervorgerufen wird.

Bei der freiwilligen Zersetzung der Milch sind diese Organismen von besonderem Interesse, weil Milch, eines der Hauptnahrungsmittel, unter gewöhnlichen Verhältnissen oft in wenigen Stunden durch die Einwirkung von Bacterien eine Umwandlung erfährt, die sie für den Gebrauch als Nahrungsmittel ungeeignet macht. Andererseits ist es wohl bekannt, dass der Wohlgeschmack vieler Milchproducte, wie Butter und Käse durch den günstigen Einfluss von Mikroorganismen erlangt wird.

Die ersten genaueren Studien oder Versuche hinsichtlich der auf die Milch einwirkenden Organismen wurden in der letzten Hälfte des neunzehnten Jahrhunderts unternommen. Pasteur[1]) beobachtete einen Organismus, welchen er als den Erreger der Milchgerinnung ansehen zu können glaubte, weshalb er ihn „Ferment lactique" nannte. Später gelang es Lister[2]) einen kleinen elliptischen Milchsäure bildenden Organismus zu isolieren, der von ihm mit dem Namen „Bacterium lactis" bezeichnet wurde.

---

1) Compt. revd. 1857. T. XLV. p. 913.
2) Quar. Journal Micro. Sci 1877.

644355

Digitized by Google

Dann war es besonders Hueppe[1]) der eingehende Studien über die Milchsäuregährung anstellte, die grundlegend für die ganze heutige Milch- und Käsewirtschaft waren. Er war der erste, der einen milchsäurebildenden niederen Pilz aus saurer Milch nach dem Koch'schen Verfahren in Reinkultur züchtete, in morphologischer und physiologischer Beziehung genau beschrieb und seine Wirkung in völlig keimfrei gemachter Milch zur Anschauung brachte. Anfangs glaubte man in dem Bacillus acidi lactici Hueppe den alleinigen Erreger der Milchsäuregährung gefunden zu haben, bis man noch verschiedene andere, und zwar zunächst nicht aus saurer Milch gezüchtete niedere Pilze kennen lernte, die unter passenden Bedingungen eine ähnliche Zersetzung des Milchzuckers zu bewirken vermögen.

Diese Ergebnisse wurden später von mehreren Forschern bestätigt und erweitert. Z. B. fand Marpman[2]) fünf verschiedene Arten, welche Milchzucker vergähren und stellte fest, dass in ein und derselben Milchprobe zu gleicher Zeit mehrere Organismen an dem Säuerungsprozess teilnehmen.

Grotenfelt[3]) fand in saurer Milch vorwiegend Bacterien, die dem Bacillus acidi lactici Hueppe sehr ähnlich waren; ebenso später Claus[4]), Würtz und Leudet[5]),

---

1) Hueppe, Mitth. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte, 1884. Bd. II S. 309.

2) Ergänzungshefte zu Cent'lblatt für All. Gesund. Bd. II S. 117.

3) Gösta Grotenfelt, Studien über die Zersetzungen d. Milch. (Fortschritte d. Med. 1889).

4) Joh. Claus, Inaug. Dissert., Würzburg 1889.

5) Würtz und Laudet, Recherches zur l'action pathogène du Bacille lactique. (Arch. de méd. experim. et d'anatomie path. Paris 1891 p. 487.

Digitized by Google

Denys und Martin[1]) und Wilde[2]). Sie bestätigten also alle die Behauptung von Hueppe, dass der Bacillus acidi lactici der gewöhnliche Erreger der freiwilligen Milchgewinnung sei. Zu einem anderen Ergebnis gelangte Leichmann[3]). Er fand bei der Untersuchung sehr zahlreicher spontan geronnener Milchproben aus den verschiedensten Oertlichkeiten und zu verschiedenen Jahreszeiten den Hueppe'schen Bacillus entweder gar nicht oder nur sehr spärlich, dagegen stets eine neue milchsäurebildende Art, Bacterium lactis acidi in so überwiegender Menge, dass er diese als den vorwiegenden Erreger der freiwilligen Milchgewinnung ansprechen zu müssen glaubte. Das Bacterium lactis acidi Leichmann fanden auch Günther und Thierfelder[4]) in Berlin und Esten[5]) in Amerika in der sauren Milch vorwiegend, sprachen es aber irrtümlich als Bacillus acidi lactici an. Den Widerspruch zwischen seinen eigenen Befunden und den früheren von Hueppe und seinen Nachfolgern versuchte Leichmann[6]) später aufzuklären und fand die Ursache der von einander abweichenden Befunde in der Verschiedenheit der von ihm und den früheren Forschern angewendeten Untersuchungsmethoden. Auf Grund seiner erneuten Beobachtungen hielt er seine früheren Behauptungen aufrecht und zeigte ausführlich, dass Bacillus acidi

1) Denys und Martin, Sur les rapports du Pneumobacille de Friedlaender etc. Cellule T. IX 1893 p. 261.

2) Wilde, Inaug. Dissertation. Bonn 1896.

3) Leichmann, Ueber die freiwillige Säuerung der Milch (Milchzeitung 1894. Nr. 33).

4) Arch. für Hygiene. Bd. XXV. 1895 p. 164.

5) Ebenda. 1896 p. 44.

6) Leichmann, Ueber die Beteiligung des Bacillus lactis aerogenes an der freiwilligen Säuerung der Milch (Centralbl. f. Bak. II obl. 1899. Bd. V).

Digitized by Google

lactici Hueppe und die ihm nahe verwandten Formen aus der Gruppe des Bacillus lactis aërogenes nur in sehr untergeordnetem Masse an der spontanen Säuerung der Milch beteiligt sind. Neuerdings bestätigen noch besonders eingehend Weigmann[1]), Kozai[2]), Troili-Petersson[3]), Appel[4]) die von Leichmann vertretene Ausschauung, sodass jetzt wohl ziemlich unbestritten das Bacterium lactis acidi als der vorwiegende, überall auftretende Erreger der unter den gewöhnlichen Verhältnissen erfolgenden spontanen Milchsäuerung angesehen wird. Dieses Bacterium gedeiht vortrefflich bei 18—30° C und hat sein Temperaturoptimum zwischen 30—38°. Ueber 40° wächst es kümmerlich; bei 42° gedeihen nur noch einzelne besonders kräftige Kulturstämme mit geringer Energie. Die freiwillige Säuerung der Milch geht aber bei diesen Temperaturen ebenso rasch und kräftig vor sich wie bei 30—40°; ja Alexander Müller[5]), Richet[6]), Leichmann[7]) beobachteten, dass noch bei höheren Wärmegraden bis zu ca 52° C. hinauf die freiwillige Säuerung der Milch sehr rasch und lebhaft erfolgt.

Nach dem vorher geschilderten Verhalten des Bacterium lactis acidi bei den verschiedenen Temperaturen muss man annehmen, dass bei der freiwilligen Säuerung der Milch bei einer Wärme über 40° oder doch über 42° andere Bacterienformen beteiligt sind. Leichmann[8]) fand, dass die bei 44—52° stattfindende Milchsäuerung

1) Centralbl. f. Bakt. II obt. 1899. p. 825.
2) Dissertation Halle 1899.
3) Zeitschrift für Hygiene. 1899 Bd. 32. p. 361.
4) Berichte des Ldw. Instituts, Koenigsburg 1900.
5) Die Ldw. Vers. Stat. 1867. Bd. 9.
6) Compt. rend. 1879. 88. p. 750.
7) Die Ldw. Vers. Stat. 1893. Bd. 43.
8) Milchzeitung, 1896. No. 5.

Digitized by Google

durch zwei kräftig milchsäurebildende Organismen, Micrococcus lactis acidi und Bacillus lactis acidi vorwiegend bewirkt wird, die beide ihr Temperaturoptimum gerade bei diesen hohen Wärmegraden haben. Kozai[1]) beobachtete, dass, wenn er Milch bei 36—39° säuern liess, Bacterium lactis acidi (er nennt es Bacillus acidi paralactici) sich zwar noch sehr reichlich entwickelte, doch nicht so einseitig vorherrschend wie in Milch, die bei Zimmertemperatur gerann. Sondern es wächst neben diesem Bacterium noch sehr zahlreich eine zweite milchsäurebildende Form, „Bacillus acidi laevolactici Halensis" Kozai und in nicht unbeträchtlicher Menge auch eine dritte, „Micrococcus acidi paralactici liquefaciens Halensis" Kozai.

Ganz unbekannt aber ist es noch, wie sich die spontane Zersetzung der Milch zwischen 40—44° C, besonders bei 42° vollzieht, und welche Organismen sich dabei beteiligen.

Um festzustellen, in welcher Weise die freiwillige Zersetzung der Milch bei Temperaturhöhen von 40° C. bis 44° C. erfolgt, und welche Bacterien dabei beteiligt sind, haben wir die folgenden Untersuchungen unternommen. Das hierzu erforderliche Material lieferten die hiesige Schlote'sche Milchwirtschaft und die Göttinger Centralmolkerei.

Aus jeder diesen beiden Quellen wurden entnommen:

3	Proben	im	Mai	1900
6	„	„	Juni	„
6	„	„	Juli	„
3	„	„	August	„
3	„	„	September	„
2	„	„	October	„
2	„	„	November	„

1) Dissertation, Halle 1899.

Digitized by Google

Also von jeder Quelle 25 Proben oder eine Gesammtmenge von 50 Proben. Jede Probe wurde in drei Teile geteilt, jeder Teil in Brutschränken untergebracht und zwar bei einer Temperatur von 40°, bezw. 42°, bezw. 44° C.; in jedem Fall war die Milch innerhalb 24 bis 48 Stunden geronnen. Darauf wurden Plattenkulturen aus Molkepeptongelatine (nach Leichmann bereitet)[1]) und Agar in der gewöhnlichen Weise hergestellt, und nach kurzer Zeit kam eine unbegrenzte Anzahl von Colonieen zum Vorschein. Auch wurde eine grosse Zahl luftfreier Plattenkulturen angelegt, aber specifisch anaerobe Arten wurden nicht vorgefunden. Sterilisierte Milch enthaltende Röhrchen wurden geimpft und jene Arten, welche die Fähigkeit besassen, eine Milchgerinnung bei 42° C. herbeizuführen, zu weiteren Untersuchungen herangezogen. Bei diesen Untersuchungen, welche sich über eine Zeitdauer von sieben Monaten erstreckten, fielen vier Arten von Bacterien als bemerkenswert auf:

Bacterium (I)
Bacillus (II)
Bacterium (III)
Micrococcus (IV)

Es muss hier erwähnt werden, dass die Plattenkulturen, aus Agar bereitet, in einen Brutschrank bei einer Wärme von 42°, und die aus Gelatine bereiteten bei einer Wärme von 22° gestellt wurden. Die Kulturen, welche dem höheren Wärmegrad ausgesetzt wurden, zeigten eine sehr rasche Entwickelung, während die bei 22° sich langsamer entwickelten. Die Gelatineplatten sowohl, als die Agarplatten wiesen andere Formen von Hefe und Bacterien auf, aber nur die vier oben bezeichneten Formen zeigten ein Tempe-

1) Centralbl. f. Bak. 1899 p. 389.

Digitized by Google

raturoptimum über 40° und brachten Milch bei 42° zum gerinnen. Die beiliegende Tabelle zeigt das Verhältnis in dem jede Art, nach der Zersetzung der Milch bei den drei oben erwähnten Temperaturen in den Proben enthalten war.

\+ bedeutet eine grosse Anzahl
— „ „ kleine „
0 „ keine

	Datum d. Proben.	Bei einer Temperatur von 40° C.				Bei einer Temperatur von 42° C.				Bei einer Temperatur von 44° C.			
		Bact. No.	Bacil. No.	Bact. No.	Micro. No.	Bact. No.	Bacil. No.	Bact. No.	Micr. No.	Bact. No.	Bacil. No.	Bact. No.	Micro. No.
	1900	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
Proben für Mai	17	+	—	—	—	+	—	—	—	+	—	—	0
	25	+	+	—	—	+	+	—	—	+	+	—	—
	30	+	+	—	—	+	+	—	—	+	+	—	—
Proben für Juni	12	+	+	+	—	+	+	+	—	+	+	+	—
	13	+	+	+	—	+	+	+	—	+	+	+	—
	20	+	+	+	—	+	+	+	—	+	+	+	0
	23	+	+	+	—	+	+	+	—	+	+	+	0
	28	+	+	+	—	+	+	+	—	+	+	+	0
	30	+	+	+	—	+	+	+	—	+	+	+	0
Proben für Juli	5	+	+	+	0	+	+	+	0	+	+	+	0
	11	+	+	+	—	+	+	+	0	+	+	+	0
	14	+	+	+	—	+	+	+	—	+	+	+	—
	20	+	+	+	—	+	+	+	—	+	+	+	—
	26	+	+	+	—	+	+	+	—	+	+	+	—
	31	+	+	+	—	+	+	+	—	+	+	+	—
Proben für August	8	+	+	+	0	+	+	+	0	+	+	+	0
	17	+	+	+	—	+	+	+	—	+	+	+	0
	27	+	+	+	—	+	+	+	—	+	+	+	—
Proben für September	17	+	+	+	—	+	+	+	—	+	+	—	—
	12	+	+	—	—	+	+	+	—	+	+	—	—
	24	+	+	—	0	+	+	—	0	+	+	—	0
Proben für October	17	+	—	—	—	+	+	—	—	+	+	—	—
	29	+	—	—	—	+	—	—	—	+	—	—	—
Proben für November	13	+	—	—	—	+	—	—	—	+	—	—	—
	26	+	—	—	—	+	—	—	—	+	—	—	—

Digitized by Google

Auf den folgenden Seiten wird eine eingehende Beschreibung von jedem dieser Mikroorganismen gegeben. Ferner wird gezeigt, welche Rolle jede einzelne Art bei der Zersetzung der Milch bei hoher Temperatur spielt.

Bacterium (I).

Dieser Organismus kommt in allen Proben, ohne Ausnahme, während der sieben Monate von Mai bis November in regelmässig grosser Anzahl vor. Er erscheint als plumpes, unbewegliches Stäbchen mit abgerundeten Enden. Die Länge des Stäbchens beträgt 1.5 bis 3 μ, seine Breite 1 bis 1.25 μ. Es sei hier erwähnt, dass sämmtliche Messungen am lebenden Material im hängenden Tropfen ausgeführt wurden. Die Messungen am gefärbten Präparat liefern brauchbbare Zahlen deswegen nicht, weil die einzelnen Keime beim Eintrocknen am Deckglase einschrumpfen. Kettenbildung wurde nur in Milchculturen wahrgenommen. Sporenbildung wurde nicht beobachtet. Das Stäbchen färbte sich mit den verschiedenen Anilinfarben, aber nicht nach der Gram'schen Methode.

Luftfreie Kulturen von Molkegelatine und Pepton-Nährsalzlösung, beide mit Zuckerzusatz, wurden bereitet. In den Gelatinekulturen erschienen die Kolonieen erst nach einigen Tagen. Nachher wuchsen sie sehr langsam und kümmerlich. Die Nährsalzlösungkulturen wurden in den Brutschrank bei einer Temperatur von 42° gestellt. Diese zeigten nach 3 Tagen eine schwache Trübung, aber lange nicht so kräftig als die Kulturen, die nur mit Wattepfröpfen geschlossen waren. Aus diesen Versuchen geht hervor, dass das Wachstum des Bacteriums durch den Luftabschluss bedeutend behindert wird.

Digitized by Google

Wachstum auf verschiedenen Nährböden.

1) Milchkulturen. Sterile Milch in Kulturröhrchen mit diesem Organismus geimpfte, gerinnt in 18 Stunden, bei einem Wärmegrad von 42°, zu einem festen Koagulum. Es bildet sich ein klares Serum, welches stark sauer reagiert. Das Koagolum wurde in vier Monaten nicht aufgelöst. Man beobachtete in den Milchkulturen eine lebhafte Gasentwickelung.

2) Plattenkulturen von Molkengelatine[1]). Die in der Gelatine eingeschlossenen Kolonieen erscheinen als gelbliche Pünktchen, die bei schwacher Vergrösserung eine regelmässig, rundliche Form zeigen. Sobald sie an die Oberfläche treten erscheinen sie als schmutzigweisse ausgebreitete Blättchen. In Plattenkulturen von Gelatine, nach Migula[2]) bereitet, mit Milchzuckerzusatz, bemerkt man in dem Umkreise der Kolonieen kleine Gasblasen. In Plattenkulturen von Agar erscheinen die in den Agar eingeschlossenen Kolonieen als weisse Pünktchen, aber sobald diese Kolonieen an die Oberfläche treten, wachsen sie in die Höhe wie eine kleine Säule, manchmal 2 bis 4 mm hoch.

3) Stichkulturen. In Molkegelatine bildet sich längs des ganzen Impfstiches eine gleiche weisse körnige Linie. An dem oberen Ende des Impfstiches wächst eine Kolonie ähnlich den Oberflächenkolonieen auf Gelatineplatten. Spuren von Gasblasen wurden beobachtet. Stichkulturen in Gelatine mit Milchzuckerzusatz zeigen viele Gasblasen längs des Stichkanals. In Stichkulturen von Agar ist das Wachstum ähnlich wie auf Gelatinestichkulturen mit Ausnahme des Wachstums am oberen Ende des

---

1) Nach Leichmann bereitet. Milchzeit. 1896. p. 68.
2) Migula, System der Bakterien. I. Bd. p. 255.

Digitized by Google

Impfstriches, welcher sich bald bis zur Wand des Gläschens ausbreitet. In Agarstichkulturen mit verschiedenen Zuckerzusätzen tritt bald eine lebhafte Gasentwickelung ein. Manchmal war der Nährboden zerrissen und ein Teil desselben bis zu dem Pfröpfchen des Kulturröhrchens geschoben.

4) Oberflächenkulturen. Auf schrägem Agar bildet sich längs des Impfstriches eine üppige weisse Auflagerung in sechs Stunden bei 42° C., die sich über die ganze Oberfläche des Agars bis zur Wand des Gläschens in 36 Stunden ausbreitet. Auf Kartoffeln bildet sich bei 42° C. in sechs bis acht Stunden eine kräftige schmutzigweisse Auflagerung.

5) Verhalten in flüssigen Nährböden. Fleischbouillon wird bei 42° C. in acht Stunden getrübt. In kurzer Zeit bilden die Kulturen eine lockere Haut an der Oberfläche, die bei Berührung des Gläschens in Stücke zerfällt und zu Boden sinkt. In Nährsalzlösung, nach Nägeli bereitet, mit verschiedenen Zuckerzusätzen, bildet sich viel Bodensatz aber keine Oberhaut. Die Lösungen bleiben klar.

Um die Vergährbarkeit der verschiedenen Zuckerarten durch das Bacterium kennen zu lernen, wurde Nägelische Pepton-Nährsalzlösung (bestehend aus einem Liter Wasser

1 gr. Dikaliumphosphat
0,2 gr. krys. Magnesiumsulfat
0,1 gr. Chlorcalcium
10 gr. Pepton)

mit 2 % der wichtigsten Zuckerarten und ausserdem noch mit Stärke versetzt, geimpft und nach Verlauf von 3, 7, 14 u. 21 Tagen durch Titrieren mit $\frac{N.}{10}$ Natronlauge und Phenolphtalein als Indikator auf ihren Säuregrad untersucht.

Digitized by Google

Nach dreitägigem Verweilen der Kulturen im Brutschrank bei 42° C. wurden auf je 10 cm³

	der Kulturflüssigkeit	der ungeimpften Nährlösung
bei Milchzucker	1.6 cm³	0.7 cm³
„ Rohr- „	1.7 „	0.5 „
„ Trauben „	1.7 „	0.7 „
„ Lävulose	1.6 „	0.6 „
„ Maltose	2.3 „	0.7 „
„ Stärke	1.0 „	1.0 „
Zuckerfrei	0.6 „	0.5 „
Lauge verbraucht.		

Nach sieben Tagen bei 42° wurden auf je 10 cm³

	der Kulturflüssigkeit	der ungeimpften Nährlösung
bei Milchzucker	1.6 cm³	0.6 cm³
„ Rohr- „	1.8 „	0.7 „
„ Trauben-„	2.0 „	0.8 „
„ Lävulose	2.8 „	0.7 „
„ Maltose	1.8 „	0.5 „
„ Stärke	1.0 „	1.0 „
Zuckerfrei	0.5 „	0.7 „
Lauge verbraucht.		

Nach 14 Tagen bei 42° C. wurden auf je 10 cm³

	der Kulturflüssigkeit	der ungeimpften Nährlösung
bei Milchzucker	1.6 cm³	0.6 cm³
„ Rohr- „	1.8 „	0.7 „
„ Trauben-„	2.0 „	0.6 „
„ Lävulose	1.6 „	0.9 „
„ Maltose	1.6 „	0.6 „
Zuckerfrei	0.5 „	0.5 „
Lauge verbraucht.		

Digitized by Google

Nach 21 Tagen bei 42° C. wurden auf je 10 cm³

	der Kulturflüssigkeit	der ungeimpften Nährlösung
bei Milchzucker	1.8 cm³	0.6 cm³
„ Rohr- „	2.0 „	0.8 „
„ Trauben-„	1.2 „	0.6 „
„ Lävulose	1.6 „	0.8 „
„ Maltose	1.6 „	0.6 „
Zuckerfrei	0.6 „	0.6 „

Lauge verbraucht.

Bei diesen Versuchen stellte sich heraus, dass Maltose, Lävulose und Traubenzucker am leichtesten vergährbar sind. Die Lösung ohne Zuckerzusatz zeigte deutliche Trübung, aber keine Vergährung.

Zur weiteren Untersuchung der Stoffwechselproducte, die das Bacterium bildet, haben wir einem Liter Pepton-Nährsalzlösung mit 2 % Rohrzuckerzusatz, ca. 10 gr. kohlensauren Kalk hinzugesetzt und dann diese Flüssigkeit mit dem Bakterium geimpft und im Brutschrank bei 42° C. untergebracht. Nachdem die Kulturen drei Wochen alt geworden waren, wurden die vergorenen Nährlösungen zunächst mikroscopisch im hängenden Tropfen und im gefärbten Präparat auf die Reinheit der in ihnen vorhandenen Bacterienkulturen untersucht. Ueberdies wurden auch noch Platten gegossen. Solche Voruntersuchungen sind unbedingt nötig, weshalb sie stets ausgeführt wurden, auch wenn dies im Folgenden nicht immer besonders erwähnt ist. Die Säure der Nährflüssigkeit, sofern sie nicht schon ganz an $CaCO_3$ gebunden war, wurde mit kohlensaurem Kalk neutralisiert. Dann wurden 500 cm³ von der neutralisierten Flüssigkeit abgemessen und davon ca. 100 cm³ zwecks Alkoholbestimmung abdestilliert. Dieses Destillat zeigte deutlich die Jodoformreaktion, was auf die Gegen-

Digitized by Google

wart von Athyl-Alkohol schliessen lässt. Der Rückstand der Flüssigkeit wurde wieder mit destilliertem Wasser auf 500 $^{cm\,3}$ gebracht und dann Weinsäure hinzugesetzt bis zur starksauren Reaktion, zwecks Freimachung der an Calcium gebundenen Säuren. Dann wurden die flüchtigen Säuren nach Duclaux[1]) bestimmt.

Das Princip der Duclaux'schen Methode hinsichtlich der Bestimmung flüchtiger Säuren ist folgendes:

1) Unterwirft man wässerige Lösungen von flüchtigen Säuren einer fractionierten Destillation, fängt man z. B. von 110 $^{cm\,3}$—100 $^{cm\,3}$ auf und titriert mit Alkali, so zeigt sich, dass das Verhältnis der für die einzelnen Fractionen verbrauchten Alkalimengen ein für die betreffende Säure ganz bestimmtes ist. So findet man z. B. bei der Ameisensäure ein langsames Zunehmen des Säuregehaltes der einzelnen Fractionen im Anfang, und ein stärkeres zum Schluss. Bei den nächst höheren Gliedern der Fettsäurereihe geht dieses Verhältnis allmählich je nach der Molekulargrösse in das Umgekehrte über. Man kann hieraus mit Sicherheit auf die Natur der vorhandenen flüchtigen Säuren schliessen.

2) Ferner besteht ein bestimmtes Verhältnis zwischen der in den Destillationskolben eingeführten Säuremenge und der Menge, welche zu einer beliebigen Zeit derartig destilliert ist, dass man aus der in einzelnen Fractionen übergegangenen Menge auf die in dem Destillationskolben vorhandene Gesammtsäuremenge schliessen kann.

3) Wenn zwei gemischte Säuren vorhanden sind, so verhält sich jede, als ob sie allein vorhanden sei und folgt den Gesetzen ihrer eigenen Destillation. Ein dies bezügliches Beispiel wird nachher angeführt.

Sehen wir jetzt einmal, wie man diese Gesetze practisch anwenden kann.

1) Annales de l'Institut Pasteur, 1895. p. 265.

Digitized by Google

Zunächst brachten wir genau 110 ^{cm3} unserer Flüssigkeit in ein „Erlenmeyer'sches Kölbchen" von 250 ^{cm3} Inhalt und verfuhren mit der Destillation wie oben erklärt worden war, indem besondere Sorgfalt darauf verwandt wurde, genau 10 ^{cm3} des Destillats in jedem gewonnenen Teil mit einer Lösung von Kalkwasser zu titrieren, wobei Lakmus als Indikator gebraucht wurde, und der an der Burette angezeigte Stand in regelrechter Reihenfolge vom ersten bis zum zehnten Teil aufgeschrieben wurde. Die Destillationen erforderten 50 Minuten. Die abgelesenen Zahlen wurden dann als Factoren von je 100 gesetzt, d. h. indem jede der angezeigten Zahlen mit 100 multipliciert und das Resultat in jedem Falle durch die zuletzt abgelesene Zahl dividiert wurde. So erhielten wir eine Reihe von Zahlen, die charakteristisch für die abdestillierte Säure sind, und welche den in der Duclaux'scher Tabelle unter dem Namen Essigsäure gegebenen Werten entsprechen. Wir lassen hier vergleichsweise die in der Tabelle unter Essigsäure angeführten Werte und die durch unsere Bestimmung erlangten Zahlen folgen:

Zahlen der Tabelle = 7.4, 15.2, 23.4, 32.0, 40.9, 50.5, 60.9, 71.9, 84.0, 100.

Unsere Zahlen = 7.2, 15.1, 23.3, 31.7, 40.5, 50.0, 60.6, 71.5, 84.0, 100.

Nach dem Titrieren entleerten wir das Destillat in eine Porcellanschale, wo es abgedampft wurde. Dem Rückstand wurde ein wenig Alkohol und Conz. H_2SO_4 hinzugesetzt, worauf ein deutlicher Essigäthergeruch wahrnehmbar war.

Mittels derselben Methode ist eine quantitative Bestimmung leicht und einfach. Man stellt zuerst die Stärke der angewandten alkalischen Lösung fest, indem man sie mit einer Säure von bekannter Stärke titriert. Wie titrierten unser Kalkwasser mit $\frac{N.}{10}$ Salzsäure und

Digitized by Google

fanden, dass 10 ^{cm3} $\frac{N.}{10}$ HCl = 23.5 ^{cm3} Kalkwasser, oder 23.5 ^{cm3} Kalkwasser 1 ^{cm3} Normalsalzsäure entspricht. Die Neutralisierung des 10×10 ^{cm3} Destillats beanspruchte im ganzen 62.8 ^{cm3} Kalkwasser, die in dem 100 cm^3 Destillat enthaltene Säuremenge entspricht also 2.66 ^{cm3} Normal HCl: resp. Normalessigsäure oder 0.1596 Essigsäure.

Der Rest der Kulturflüssigkeit wurde mit Weinsäurezusatz bis zur Sirupkonsistenz eingedampft. Die flüchtigen Säuren wurden durch Eindampfung in die Luft verjagt. Die nicht flüchtigen Säuren wurden aus dem zu Sirup eingedampften Rückstande durch Verreibung mit Aether ausgezogen. Der Aether wurde abdestilliert, und wir erhielten einen geringen Rückstand, welcher Jodoformreaktion ergab, was auf Milchsäure schliessen lässt. Wegen der geringen Menge war eine genauere Untersuchung nicht möglich.

Zunächst wurde sterilisierte, abgerahmte Milch, die mit kohlensaurem Kalk versetzt war, geimpft und nach dem Eintritt der Koagulation auf die Stoffwechselproducte untersucht. In dieser Untersuchung haben wir dieselben Resultate wie bei Nährlösungculturen gewonnen, nämlich eine reichliche Menge von Essigsäure und eine geringe Menge von Milchsäure und Alkohol.

Bereits oben ist mehrfach erwähnt worden, dass dieses Bacterium Gas bildete. Es galt nun das Gas näher zu untersuchen. Zunächst wurden Gährungskölbchen [1]) teils mit zuckerhaltiger Lösung teils mit abgerahmter Milch

1) Die Gährungskolben, die wir gebraucht haben, sind sehr einfache und bequeme Apparate zum Sammeln kleiner Quantitäten von Gasen. Diese Kolben unterschieden sich von den gewöhnlichen Gährungskolben dadurch, dass das Horn oder Rohr 2 oder 3 mal so gross ist als bei den gewöhnlichen Gährungskolben. Ausserdem

Digitized by Google

gefüllt, sterilisiert und geimpft. In beiden Fällen bildete sich eine bedeutende Menge von Gas. Nach 8 Tagen wurden 84 ^{cm3} gesammelt und nach Hempel [1]) untersucht. Diese Untersuchung zeigte das Vorhandensein von etwa 44 % kohlensaurem Gas und 56 % Wasserstoff.

Zur Untersuchung auf Eiweissumwandlungsproducte haben wir 500 ^{cm3} Milch in Kölbchen durch fractionierte Erhitzung im Dampftopf steril gemacht, diese mit dem Bacterium geimpft und dann im Brutschrank bei 42° C. untergebracht. Bald wurde die Milch in festen Klumpen koaguliert, während sich ein klares Serum ausschied. Das Koagulum wurde nicht aufgelöst. Die Untersuchung der Kulturen geschah nach Verlauf von drei Wochen in folgender Weise [2]):

Zur Trennung der einzelnen Körperklassen, also des Caseïns von Caseïnpropepton und Caseinpepton und Eiweisszersetzungsproducten wurden je 20 ^{cm3} der zu untersuchenden, so gut wie möglich gemischten Milch (in diesem Falle haben wir die ganze Kultur in eine Reibschale gegossen und mit dem Stössel zusammengerieben) mit 80 ^{cm3} Wasser verdünnt. Das ganze wurde sodann erwärmt und durch vorsichtigen Zusatz einer Salzsäure, die auf 100 ^{cm3} Wasser 2 ^{cm3} konz. Salzsäure enthielt, das unveränderte Caseïn abgeschieden, ausgewaschen und noch feucht zur Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl benutzt. In der vom Caseïn abfiltrierten Flüssigkeit haben wir die Trennung der peptonhaltigen Körper von dem Eiweisszersetzungs-

besitzt es am oberen Ende eine kleine ausgezogene Oeffnung oder Kapillare, die mit einem Stückchen Gummischlauch und einem Glasstäbchen geschlossen wird. Wenn das Gas in diesem Apparat gesammelt wird, so kann es für die Analyse direct und ohne Schwierigkeit in die Gasburette eingeführt werden.

1) Hempel, Gasanalyse 1900.

2) Jahrbuch der Schweiz. 1893 p. 236.

Digitized by Google

producte mit Gerbsäure bewirkt. Der Gerbsäureniederschlag wurde mit Wasser ausgewaschen und in diesem noch feucht nach der Kjeldahl'schen Methode der Stickstoff ermittelt. In jedem Falle wurde der Stickstoffgehalt mit dem Factor 6,39 [1]) multipliciert um das Caseïn zu bestimmen. Als Kontrole haben wir mehrere Kölbchen gleicher sterilisierter Milch zu gleicher Zeit mit den Kulturen in den Brutschrank gebracht und den Gesammteiweissgehalt der ungeimpften Milch bestimmt. Der Genauigkeit wegen haben wir Paralell-Untersuchungen gemacht.

Die Resultate unserer Untersuchungen waren nun folgende:

Gesammteiweissgehalt der sterilen Kontrolmilch = 3.32 %

Kulturen:
- Caseïn, unverändert = 3.00 %
- Peptonartige Eiweissstoffe u. Albumin = 0.35 %
- Eiweisszersetzungsproducte = 0.00 %

Nach den oberen Zahlen glauben wir, dass das Bacterium nicht die Eigenschaften besitzt, Eiweissstoffe zu zersetzen, wohl aber zu peptonisieren. Zur weiteren Untersuchung der Eigenschaft, Eiweisskörper zu peptonisieren, wurde das Serum abfiltriert und ein Teil desselben unter Erwärmen auf 30 bis 40° C. mit krys. schwefelsaurem Zink (etwa 30 gr. auf 15 cm^3) versetzt, so dass alle Eiweisskörper mit Ausnahme des Peptons ausfallen. Der entstehende Niederschlag wird abfiltriert, das Filtrat mit Natronlauge (1+1 bereitet) stark alkalisch gemacht, bis zur Auflösung des Zinkhydroxyds und tropfenweise mit 1 Prozent Kupfersulfatlösung versetzt. Es trat hierbei eine schöne violette Färbung auf, so dass man schliessen konnte, dass Pepton vorhanden war. Zur Alkoholbestimmung wurde der Rest

1) Fleischmann, Lehrbuch d. Milchwirtschaft, 2. Aufl, p. 30.

Digitized by Google

des Serums mit kohlensaurem Kalk alkalisch gemacht und etwa ein Drittel davon abdestilliert. Das Destillat roch nach Alkohol und gab die Jodoformreaktion. Der Rückstand wurde mit Weinsäure versetzt und auf Milchsäure nach bekannter Weise untersucht. Es wurde eine geringe Menge von Milchsäure gefunden, aber nicht genug, um feststellen zu können, ob sie rechts- oder linksdrehend sei.

Zur Bestimmung des Temperaturoptimums wurde wieder sterile Milch in einer Anzahl von Röhrchen geimpft und den konstanten Temperaturen von 22°, 25°, 33°, 40°, 42°, 45°, ausgesetzt. Die Milch koagulierte wie folgt:

bei 42° in 15 bis 18 Stunden
„ 40° „ 18 „
„ 45° „ 18 bis 20 Stunden
„ 33° „ 30 „
„ 25° „ 4 Tagen
„ 22° „ 5 bis 6 Tagen

Hieraus ist ersichtlich, dass das Temperatur-Optimum bei 42° liegt.

Wenn wir die besonderen Merkmale dieses schon beschriebenen Bacteriums (I) betrachten, so finden wir, dass es morphologisch und physiologisch den vielen beschriebenen Formen des Bacillus lactis aërogenes gleicht und doch mit keiner derselben genau identisch ist. Bacterium (I) gedeiht am besten bei einer Temperatur von über 40° C., eine Eigentümlichkeit, die bei keiner der beschriebenen Aërogenesarten erwähnt wurde. In Grösse und Form besteht ebenfalls eine grosse Ungleichheit; die fast kokkenartige Form von Escherich, oder die aus schlanken bis 15 μ Stäbchen bestehende von Wilde beschriebene Form wurde nicht beobachtet. Auch zeigten sich andere untergeordnete Verschiedenheiten in dem Wachstum auf verschiedenen Nährböden.

Digitized by Google

Bacterium (I) sowohl als sämmtliche aërogenes-ähnliche Arten erzeugen reichliche Mengen Gas und machen bei hoher Temperatur die Milch sehr schnell gerinnen.

Die chemische Natur der in Milch oder in milchzuckerhaltigen Nährflüssigkeiten gebildeten nicht gasförmigen Stoffwechselproducte ist in vielen Fällen ganz verschieden. Baginsky[1]) züchtete eine Form der Aërogenesgruppe, welche in Milchculturen eine grosse Menge Essigsäure entwickelte und nur eine Spur von Milchsäure producierte. Auch verhielt sich der Einfluss auf Caseïn genau wie bei Bacterium (I). Er fand nur einen minimalen Verlust an stickstoffhaltigem Material, während Eiweisszersetzungsproducte vollständig vermisst wurden. Escherich[2]) fand nur Milchsäure; Grimbert[3]) Bernsteinsäure und Essigsäure. Leichmann[4]) züchtete zwei verschiedene Organismen dieser Gruppe, jeden für sich rein, in steriler Milch. Er fand in der einen geringe Mengen einer flüchtigen Säure, die nicht näher bestimmt wurde, und linksdrehende Milchsäure; in der andern keine flüchtige Säure, wiederum vorwiegend Linksmilchsäure und überdies eine geringe Menge Bernsteinsäure. Er stellte ebenfalls fest, dass die chemische Zusammensetzung der Gasgemische charakteristische (und konstante) Verschiedenheiten zeigte. Der erste Organismus, welcher in Milch Linksmilchsäure und eine flüchtige Säure bildete, erzeugte ein Gasgemisch, welches ca. 25 Vol.-Proz. CO_2 neben einem ca. 75 Vol.-Proz. betragenden, durch KOH nicht absorbierbaren, brenn-

1) Zeitschr. f. phys. Chemie. 1888. p. 434.

2) Escherich, Die Darmbacterien d. Säuglinge. Stuttgart 1886.

3) Annales de l' Inst. Pasteur T. IX. 1895. p. 840 und T. X. 1896. p. 788.

4) Centralbl. für Bac. 1899. p. 446.

Digitized by Google

baren Rest enthielt. Der andere Organismus, welcher in Milch Linksmilchsäure und Bernsteinsäure entwickelte, ergab ein Gasgemisch von ca. 70 Vol.-Proz. CO_2 und nur ca. 30 Vol.-Proz. brennbaren Rest. Escherich fand CO_2 und H; Baginsky CO_2, H und CH_4. Baumann[1]) stellte fest, dass Bac. diatrypeticus casei, welcher zur Gruppe Bac. lactis aërogenes gehört, beim Wachstum in Milch ein Gasgemisch von ca. 63 % CO_2 und nicht näher bestimmte Mengen brennbarer Gase bildet. Bacterium (I) erzeugt ein Gasgemisch von ca. 44 Vol.-Proz. CO_2 und ca. 56 Vol.-Proz. Wasserstoff.

1) Landw. Vers.-St. Bd. XLII 1893. p. 181.

Digitized by Google

Bacillus (II).

Dieser Organismus erschien in grosser Anzahl in den Monaten Mai, Juni, Juli, August und September in allen Proben ohne Ausnahme. Im October und November war die Anzahl geringer. Es wurden dann Proben im Januar und Februar genommen, um festzustellen, ob der Bacillus im Winter ebenfalls vorhanden sei. In diesen beiden Monaten wurde er auch in geringer Anzahl gefunden.

Im hängenden Tropfenpräparat erscheint er als lebhaft bewegliches Stäbchen von cylindrischer Gestalt mit ziemlich scharfen Ecken. Die Individuen hängen manchmal in Ketten von 2 zu 4 aneinander. Die Länge dieser Bacillen beträgt 2.5 μ bis 4.25 μ, ihre Breite fast 1 μ. Besondere Formveränderungen der Bacterien durch den Einfluss verschiedener Nährböden wurde nicht beobachtet. Das Stäbchen färbt sich leicht und schön mit den verschiedensten Farbstoffen. Auch nach der Gram'schen Methode. Seine Beweglichkeit wird durch 6—10 Geisseln, welche gleichmässig lang und regellos über den ganzen Körper verstreut liegen, bedingt. Er bildet grosse, ovale Sporen, 0,8 μ dick und 1.5 μ lang, welche in der Mitte der Zelle liegen. In alten Kulturen zerfällt die Membran der Mutterzelle, und im mikroscopischen Präparat bemerkt man dann nur die Sporen.

Wachstum auf verschiedenen Nährböden.

1) Milchkulturen. Bei einer Temperatur von 42° C. ist die Milch in 18 Stunden geronnen. Der Geruch ist angenehm käseartig, die Reaction sauer. In einigen Tagen nimmt dies Gerinnsel eine bräunliche Farbe an, und in zwei bis drei Wochen ist das Caseïn aufgelöst.

2) Gelatineplattenkulturen. Von gewöhnlicher

Digitized by Google

Gelatine bereitet. Es erscheinen die in der Gelatine eingeschlossenen Kolonieen als weisse Pünktchen, die bei schwacher Vergrösserung regelmässig rundliche Form zeigen. Sobald sie an die Oberfläche treten, erscheinen sie als runde, weisse Flecke, in deren Umkreise die Gelatine sehr schnell verflüssigt wird. Nach der Verflüssigung entwickelt sich auf der Oberfläche der verflüssigten Gelatine eine grauweisse Haut.

3) Gelatinestichkulturen. Kommt es nach eingetretener Verflüssigung der Gelatine zur Bildung einer oberflächlichen weissen Haut, so beobachtet man im Stichkanal sehr schwaches oder manchmal kein Wachstum. In Gelatine, nach Migula bereitet, mit Milchzuckerzusatz bildet sich im Stichkanal überhaupt kein Wachstum. Die Gelatine wird schnell von oben nach unten verflüssigt.

4) Auf Kartoffeln in Kulturröhrchen, die bei 42° C. gehalten werden, bildet sich in sechs Stunden eine sehr kräftige, feuchte, grauweisse Kolonie, die sich in 24 bis 30 Stunden über die ganze Oberfläche verbreitet und später eine dunkelbräunliche Farbe annimmt. Auf Kartoffeln, nach v. Esmarch bereitet, bildet sich ein üppiges, grauweisses Wachstum.

5) Agarkulturen. Auf schrägem Agar bilden sich üppige Kolonieen in 4 bis 6 Stunden bei 42° C. Im Agarstichkanal bemerkt man schwaches Wachstum, und in etwa zwanzig Tagen nimmt sowohl die Oberhaut wie auch der ganze Nährboden eine gelblichbraune Farbe an. Bei Nähragar mit Milchzuckerzusatz zeigt sich sehr schwaches Wachstum längs des Stichkanals. Am oberen Ende des Impfstiches entsteht eine sehr üppige Auflagerung, die eine bräunliche Farbe hat, und sich bis an die Wände des Gläschens erstreckt. In Nähragar mit Trauben- und

Digitized by Google

Rohrzuckerzusatz ist das Wachstum längs des Impfstiches bedeutend üppiger als auf Agar mit Milchzuckerzusatz.

6) Bouillonkulturen. In Fleischbouillon bildet sich zuerst oben eine wolkig flockige Trübung, die nach unten fortschreitet, bis das ganze Substrat gleichmässig getrübt erscheint und einen schwachen Bodensatz zeigt. Die Kulturflüssigkeit hat schwach alkalische Reaktion und zeigt keine Hautbildung.

9) Nägelische Peptonnährlösung. Bei Milchzuckerzusatz bildet sich in 8 Tagen eine sehr kräftige, glänzende Haut an der Oberfläche, sonst bleibt die Lösung mit wenig Bodensatz klar und giebt einen sehr feinen Käsegeruch. Eine Lösung mit Traubenzuckerzusatz zeigt eine wolkige Trübung mit grauweissem Bodensatz und dicker Haut an der Oberfläche. In einer Lösung mit Rohrzuckerzusatz ergiebt sich eine weisse, wolkige, undurchsichtige Trübung mit weissem Bodensatz und matter, kreideähnlicher Oberfläche. In Nährlösung ohne Zuckerzusatz wächst der Bacillus ziemlich gut, aber nicht so üppig wie in einer Lösung mit Zuckerzusatz.

Um die Vergährbarkeit der verschiedenen Zuckerarten durch den Bacillus kennen zu lernen, wurde Nägelische Pepton-Nährsalzlösung mit 2 % der wichtigsten Zuckerarten und ausserdem noch mit Stärke versetzt, geimpft und nach Verlauf von 3, 7, 14 und 21 Tagen durch Titrieren mit $\frac{N.}{10}$ Natronlauge und Phenolphtalien als Indikation auf ihren Säuregrad untersucht.

Nach 3-tägigem Verweilen der Kulturen im Brutschrank bei 42° C., wurden auf je 10 $^{cm\,3}$

	der Kulturflüssigkeit	der ungeimpften Nährlösung
bei Milchzucker	1.0 $^{cm\,3}$	0.7 $^{cm\,3}$
„ Rohr- „	1,4 „	0.5 „

Digitized by Google

bei	Traubenzucker	1.3 cm³	0.7 cm³
„	Lävulose	1.5 „	0.6 „
„	Maltose	1.7 „	0.7 „
„	Stärke	1.0 „	1.0 „
„	Zuckerfrei	0.6 „	0.5 „

Natronlauge verbraucht.

Nach 7-tägigem Verweilen der Kulturen im Brutschrank bei 42° C., wurden auf je 10 cm³

		der Kulturflüssigkeit	der ungeimpften Nährlösung
bei	Milchzucker	1.0 cm³	0.6 cm³
„	Rohr- „	2.1 „	0.7 „
„	Trauben-„	1.8 „	0.8 „
„	Lävulose	2.6 „	0.7 „
„	Maltose	2.1 „	0.7 „
„	Stärke	1.0 „	1.0 „
„	Zuckerfrei	0.0 „	0.7 „

Natronlauge verbraucht.

Nach 14-tägigem Verweilen der Kulturen im Brutschrank bei 42° C., wurden auf je 10 cm³

		der Kulturflüssigkeit	der ungeimpften Nährlösung
bei	Milchzucker	0.0 cm³	0.6 cm³
„	Rohr- „	1.2 „	0.7 „
„	Trauben-„	1.7 „	0.6 „
„	Lävulose	1.9 „	0.9 „
„	Maltose	1.7 „	0.6 „
„	Zuckerfrei	0.0 „	0.5 „

Natronlauge verbraucht.

Nach 21-tägigem Verweilen der Kulturen im Brutschrank bei 42° C., wurden auf je 10 cm³

Digitized by Google

	der Kulturflüssigkeit	der ungeimpften Nährlösung
bei Milchzucker	0.0 cm³	0.6 cm³
„ Rohr- „	1.0 „	0.8 „
„ Trauben-„	1.6 „	0.6 „
„ Lävulose	1.0 „	0.6 „
„ Maltose	1.0 „	0.6 „
„ Zuckerfrei	0.0 „	0.5 „

Natronlauge verbraucht.

Wie man sieht, wird Milchzucker in Nährlösung von diesem Bacillus kaum angegriffen, während aus Rohr- und Traubenzucker, Lävulose und Maltose geringe Säuremengen gebildet wurden. Stärke- und zuckerfreie Lösung wird gar nicht angegriffen, aber der Bacillus wächst in beiden Lösungen recht gut. Wie oben ausgeführt wurde, reagieren die Culturen in Milchzucker und zuckerfreier Lösung nach 14 Tagen alkalisch. Durch chemische Analysen wurde gefunden, dass diese Culturen eine beträchtliche Menge von NH_3 enthalten. Man kann daher annehmen, dass aus dem vorhandenen Pepton alkalische, resp. ammoniakalische Verbindungen gebildet wurden.

Um festzustellen, ob dieser Bacillus in der Milch vielleicht mehr Säure bildet als in der Pepton-Nährsalzlösung haben wir mehrere Kulturröhrchen, von denen jedes 10 cm³ sterilisierte Milch enthielt, geimpft. Sodann wurde der Säuregehalt durch Titrieren mit $\frac{N}{10}$ Natronlauge bestimmt, nachdem die Kulturröhrchen verschieden lange im Brutschrank gestanden hatten. Zur Controlle haben wir zugleich sterilisierte Milch mit in den Brutschrank gestellt. Die unten stehende Tabelle zeigt die nötige Menge NaOH, um je 10 cm³ zu neutralisieren:

Digitized by Google

	geimpfte Milch	ungeimpfte Milch
nach 24 Stunden	2.9 cm³	1.6 cm³
„ 36 „	3.8 „	1.6 „
„ 3 Tagen	4.0 „	1.6 „
„ 4 „	4.2 „	1.6 „
„ 7 „	5.0 „	1.6 „
„ 10 „	4.0 „	1.6 „
„ 14 „	2.5 „	1.6 „
„ 21 „	2.0 „	1.6 „
„ 36 „	0.0 „	1.6 „

Hier scheint sich in der Milch eine Säuremenge gebildet zu haben, welche im Laufe der Zeit durch die Bildung von Ammoniumsalz neutralisiert wird.

Zur Bestimmung der Stoffwechselproducte wurde ein Liter Nägelische Pepton-Nährsalzlösung mit 2 % Traubenzucker und etwas kohlensaurem Kalk versetzt, geimpft und bei einem Wärmegrad von 42° C. aufbewahrt und dann nach Verlauf von drei Wochen untersucht. Die Untersuchung ergab Alkohol und eine geringe Menge von Milchsäure. Die Bestimmungen der flüchtigen Säuren wurden, wie schon oben erwähnt, nach der Ducleaux'schen Methode gemacht. Zum Vergleich geben wir hier unsere Zahlen und die Zahlen in der Tabelle, welche 1 Teil Valerian- und 5 Teilen Essigsäure entsprechen:

Zahlen d. Tabelle = 21.5, 31.1, 40.1, 48.8, 57.7, 66.8.
Unsere Zahlen = 21.4, 31.1, 40.2, 49.0, 57.8, 67.0.

Die Neutralisierung, von 10×10 cm³ Destillat beanspruchte im ganzen 43 cm³ Kalkwasser, die in 100 cm³ Destillat enthaltene Säuremenge entspricht also 1.9 cm³ Normalsäure, resp. Valerian- und Essigsäure im Verhältnis von 1 Teil Valerian- und 5 Teilen Essigsäure.

Um die Umwandlungsproducte, welche dieser Bacillus aus den Eiweissstoffen der Milch hervorbringt, zu bestimmen,

Digitized by Google

diente eine Kultur in abgerahmter Milch, welche drei Wochen lang im Brutschrank bei 42° C. gestanden hatte. Die Kultur reagierte schwach sauer und gab einen sehr feinen käseartigen Geruch. Das Caseïn war beinahe ganz aufgelöst. Die Untersuchung ergab folgendes Resultat:

Gesammteiweissgehalt der Controlmilch = 3.67 %

Kultur = { Casein unverändert = 0.72 %
Peptonartige Eiweissstoffe u. Albumin = 0.53 %
Eiweisszersetzungsproducte = 2.42 %

Aus obigen Resultaten können wir schliesson, dass nach Verlauf längerer Zeit die ganzen Caseinkörper zersetzt sein werden.

Die weitere Untersuchung der Kultur zeigte das Vorhandensein von Alkohol und Milchsäure; auch ergab sich eine deutliche Biuretreaction für Pepton. Hier mag erwähnt werden, dass dieser Bacillus in der Milch hauptsächlich flüchtige Säuren bildet. Milchsäure war nur in geringen Mengen vorhanden, und diese kann schon vorhanden gewesen sein, bevor die Milch sterilisiert war.

Zur Feststellung des Temperaturoptimums wurde sterilisierte und dann geimpfte Milch in 6 Röhrchen einer konstanten Wärme von 22°, 26°, 33°, 38°, 41° und 44° im Brutschrank ausgesetzt. Die Milch gerann wie folgt:

bei 41° in 18 Stunden
„ 44° „ 24 „
„ 38 „ 30 „
„ 33 „ 30 „
„ 26 „ 2 Tagen
„ 22 „ 3 „

Nach diesem Versuche liegt das Temperaturoptimum des Bacillus (II) zwischen 41° und 44° C.

Digitized by Google

Bacterium (III).

Dieses Bacterium wurde in grosser Anzahl in den Monaten Juni, Juli, August und September gefunden. Im October und November war die Zahl geringer.

Im mikroskopischen Präparat erscheint es in Form von schlanken beweglichen Stäbchen, kaum an den Enden abgerundet, manchmal in Ketten von 2 bis 6 oder mehr an einander hängend. Die Länge des Stäbchens beträgt 2.5 bis 6 μ, seine Breite 0.8 bis 1 μ. Der verschiedene Nährboden hat keinen Einfluss auf die Form des Stäbchens. Es färbt sich ohne Schwierigkeit mit den verschiedenen Farbstoffen.

Wachstum auf verschiedenen Nährböden.

1) Milchkulturen. Bei einer Temperatur von 40 bis 44° wird die Milch in 24 bis 30 Stunden in einen festen Klumpen koaguliert. Nach Verlauf von einiger Zeit fängt das Koagulum an, sich langsam aufzulösen, aber nach einer Frist von sechs Wochen war der koagulierte Klump noch nicht ganz aufgelöst. Die Kultur nimmt bald eine gelbbraune Farbe an.

2) Gelatinekulturen. Auf Platten von gewöhnlicher Gelatine bereitet, erscheinen die Kolonieen in 2 Tagen als kleine, weisse Pünktchen. Bei schwacher Vergrösserung erscheinen sie blättchenförmig mit grobkörnigem Inhalt. Verflüssigung der Gelatine trat sofort ein, und auf der Flüssigkeit bildete sich ein dickes, runzeliges, grauweisses Häutchen. In Gelatinestichkulturen trat nach wenigen Tagen die Verflüssigung langsam in cylindrischer Form ein; nie wurde der ganze Nährboden aufgelöst. Auf der Oberfläche entstand ein kümmerliches, graues Häutchen. Im Stichkanal wurde ein sehr schwaches, und manchmal

Digitized by Google

auch kein Wachstum beobachtet. In Gelatine nach Migula bereitet geht die Verflüssigung viel langsamer vor sich als in Gelatine ohne Zuckerzusatz.

3) Agarkulturen. Auf Platten bei höher Temperatur erscheinen in 24 Stunden kleine grauweisse, glattrunde Kolonieen ohne besondere Merkmale. In Agarstichkultur zeigt sich längs des Impfstiches eine kräftig wachsende Kolonie. Am oberen Ende des Stichkanals entsteht eine sehr üppige, runzelige Auflagerung, die sich bald bis an die Wandung des Gläschens ausbreitet. In Agar mit den verschiedenen Zuckerzusätzen ist das Wachstum ähnlich wie auf Agar ohne Zuckerzusatz, mit der Ausnahme, dass der Nährboden nach längerer Zeit eine gelbbräunliche Farbe annimmt. Auf dem schrägen Agar bildet sich in 12 bis 18 Stunden bei 40°C. eine runzelige, derbe grauweisse Haut, die sich bis an die Wandung des Kulturröhrchens erstreckt.

4) Kartoffelkulturen. Die auf Kartoffeln entstehende Auflage ist sehr dick und kräftig, von bräunlicher Farbe, mit mehr oder weniger wulstigen Erhebungen. Der ganze Nährboden ist bald mit dieser Auflagerung bedeckt.

5) Flüssige Nährböden. Fleischbouillon ist in ein oder zwei Tagen schwach getrübt, auf der Oberfläche bildet sich ein festes, grauweisses Häutchen, welches sich beim Schütteln nicht zerteilen lässt. In Nägelischer Pepton-Nährsalzlösung, mit den verschiedenen Zuckerarten versetzt, entsteht in 1 bis 2 Tagen an der Oberfläche eine kräftige, derbe Haut. Die Lösung wird schwach getrübt mit sehr wenig Bodensatz und nimmt eine gelblichbraune Farbe an.

Dieses Bacterium vergährt die verschiedenen Zucker-

Digitized by Google

arten in Nägelischer Lösung bei einem Wärmegrad von 42° C., wie folgt:

Nach 3 Tagen wurden auf je 10 cm³

	der Kulturflüssigkeit	der ungeimpften Nährlösung
bei Milchzucker	1.2 cm³	0.7 cm³
„ Rohr- „	1.3 „	0.5 „
„ Trauben-„	1.3 „	0.7 „
„ Lävulose	1.5 „	0.6 „
„ Maltose	1.4 „	0.7 „
„ Stärke	1.1 „	1.1 „
„ Zuckerfrei	0.5 „	0.5 „

$\frac{N}{10}$ Natronlauge verbraucht.

Nach 7 Tagen wurden auf 10 cm³

	der Kulturflüssigkeit	der ungeimpften Nährlösung
bei Milchzucker	1.5 cm³	0.6 cm³
„ Rohr- „	1.9 „	0.7 „
„ Trauben-„	2.1 „	0.8 „
„ Lävulose	2.0 „	0.8 „
„ Maltose	1.7 „	0.5 „
„ Stärke	1.0 „	1.0 „
Zuckerfrei	0.7 „	0.7 „

$\frac{N}{10}$ Natronlauge verbraucht.

Nach 14 Tagen wurden auf je 10 cm³

	der Kulturflüssigkeit	der ungeimpften Nährlösung
bei Milchzucker	1.4 cm³	0.6 cm³
„ Rohr- „	2.6 „	0.7 „
„ Trauben-„	2.6 „	0.6 „
„ Lävulose	1.2 „	0.8 „
„ Maltose	1.6 „	0.6 „
Zuckerfrei	0.5 „	0.5 „

$\frac{N}{10}$ Natronlauge verbraucht.

Digitized by Google

Nach 21 Tagen wurden auf je 10 ^{cm3}

	der Kulturflüssigkeit	der ungeimpften Nährlösung
bei Milchzucker	1.7 ^{cm3}	0.6 ^{cm3}
„ Rohr- „	2.0 „	0.8 „
„ Trauben-„	2.5 „	0.6 „
„ Lävulose	1.3 „	0.8 „
„ Maltose	1.6 „	0.6 „
Zuckerfrei	0.5 „	0.5 „

$\frac{N}{10}$ Natronlauge verbraucht.

Rohr- und Traubenzucker sind also am leichtesten vergärbar, während stärke- und zuckerfreie Lösungen sich als unvergärbar erwiesen.

Zur Untersuchung der Stoffwechselproducte wurde eine Kultur in einem Liter Nägelischer Lösung mit 2 % Rohrzucker und etwas kohlensaurem Kalk versetzt, verwendet. Nach einer vierwöchentlichen Aufbewahrung bei 42° C. wurde sie untersucht.

Die flüchtigen Säuren wurden nach Ducleaux bestimmt, wobei sich ergab, dass sie aus Essig- und Valeriansäure bestanden, und im Verhältnis von 10 Teilen Essig- zu einem Teil Valeriansäure vorhanden waren. Daneben wurde Alkohol und kleine Mengen von Milchsäure gefunden.

Sodann haben wir, um die Umwandlungsproducte kennen zu lernen, welche dieses Bacterium aus den Eiweissstoffen der Milch hervorbringt, eine Kultur in 500 ^{cm3} abgerahmter Milch verwendet. Die Kultur wurde drei Wochen lang im Brutschrank bei 42° C. stehen gelassen. Nach Verlauf dieser Zeit war die Reaktion stark sauer, und ein grosser Teil des Koagulums wurde aufgelöst. Dann wurden nach erwähnter Methode die Umwandlungsproducte mit folgendem Resultat festgestellt:

Digitized by Google

Gesammteiweissgehalt der Kontrolmilch = 3.32 %

Kultur { Casein, unverändert = 0.54 %
Peptonartige Eiweissstoffe u. Albumin = 0.42 %
Eiweisszersetzungsproducte = 2.36 %

Aus obigen Werten können wir schliessen, dass nach Verlauf einiger Zeit die ganzen Caseinkörper zersetzt sein werden.

Bei weiterer Untersuchung der Milchkultur nach bekannter Methode, ergab sich deutlich Jodoformreaktion für Alkohol und Milchsäure, auch Biuretreaktion für Pepton.

Das Temperaturoptimum dieses Bacteriums liegt zwischen 42 und 45° C.

Werfen wir nun noch einen Blick auf die characteristischen Merkmale dieser beiden beschriebenen Bacterien, Bacillus (II) und Bacterium (III), so finden wir, dass sie vieles gemeinsam haben. Beide kommen regelmässig zusammen in der Milch vor, beide gedeihen am besten bei einer Temperatur von über 40° C., und beide sind bewegliche schlanke Stäbchen. Ausserdem ist das Wachstum auf den verschiedenen Nährböden in vielen Fällen sehr ähnlich; in Gelatineculturen erscheinen die Colonieen zuerst als kleine weisse Pünktchen und nach kurzer Zeit fängt die Gelatine an, sich aufzulösen; in Agarculturen ist das Wachstum fast identisch. In Nägelischer Pepton-Nährlösung mit den verschiedenen Zuckerarten versetzt finden wir, dass Milchzucker bei beiden weniger vergärbar ist als die anderen Zuckerarten. Ihr Einfluss auf die verschiedenen Nährböden vom chemischen Standpunkt aus, zeigt ebenfalls einen interessanten Vergleich; beide bilden Alkohol, beträchtliche Mengen von Essig- und Valeriansäure und geringe Mengen Milchsäure. Sie zersetzten auch in gleicher Weise das Caseïn der Milch.

Digitized by Google

Die charakteristischen Verschiedenheiten der beiden Organismen können wie folgt zusammen gefasst werden: Bacillus (II) bildet Sporen, färbt sich nach Gram, und erzeugt Ammoniakcombinationen, Fähigkeiten, welche Bacterium (III) nicht besitzt. Eine auffallende Eigentümlichkeit von Bacterium (III) besteht darin, dass der Käsestoff bei der Milchgerinnung zuerst einen festen Klumpen bildet, welcher sich nachher sehr langsam löst, während der Käsestoff der von Bacillus (II) zersetzten Milch die Gestalt einer weichen Masse annimmt.

Wenn wir Bacillus (II) mit den Heubacillen vergleichen, so bemerken wir in ihrer Form, Grösse, Sporenbildung, Beweglichkeit und ihrem Wachstum auf verschiedenen Nährböden eine fast vollständige Aehnlichkeit. Eine Vergleichung mit bestimmten Tyrothrixarten[1]) ist aus diesem Grunde nicht ohne Interesse. Tyrothrix tenuis (Duclaux) wird als lebhaftes bewegliches 0,6 μ dickes und 3 μ langes Stäbchen beschrieben, welches Sporen bildet, in der Milch das Caseïn niederschlägt und peptonisiert und durch Zersetzung desselben Ammoniaksalze, ins besondere valeriansaures Ammoniak erzeugt. Ausserdem Tyrothrix distortus (Duclaux), ein bewegliches 0.9 : 4.5—9 μ messendes, Sporen bildendes Stäbchen. Die Milch wird von ihm feinflockig koaguliert und peptonisiert. Es entwickelte essigsaures und valeriansaures Ammoniak.

Durch Vergleichung finden wir, dass das Bacterium (III) viele Eigenschaften mit den Heubacillen und den Tyrothrixarten gemeinsam hat, jedoch kann es zu keiner der beiden Gruppen gezählt werden, da es keine Sporen bildet.

1) Centralbl. für Bac. 1895 Bd. I. p. 609.

Digitized by Google

Micrococcus (IV).

Der Organismus wurde in 21 Proben in geringer Anzahl gefunden. In zwei Proben im Juli, in einer im August, in einer im September fehlte er gänzlich. Er erscheint als Diplococcus, ohne eigene Bewegung. Die Länge einer Doppelzelle beträgt 2 bis 2.4 μ, die Dicke 0.8 bis 1 μ. Er färbt sich leicht mit den verschiedenen Anilinfarbstoffen, auch nach Gram. Sporenbildung wurde nicht beobachtet.

Wachstum auf verschiedenen Nährböden.

1) Milchkulturen. Sterile Milch, mit diesem Micrococcus geimpft, wurde bei einem Wärmegrad von 42°C. in 30 Stunden fest koaguliert unter Ausscheidung eines klaren Serums. Nach Verlauf von einiger Zeit fing das Koagulum an, sich langsam aufzulösen. Es giebt eine starke Säurereaktion.

2) Fleisch-Pepton-Gelatinekulturen. Auf den gewöhnlichen Gelatineplatten wächst es bei Zimmertemperatur etwas langsam, so dass es erst nach 3—4 Tagen ganz kleine, punktförmige Kolonieen bildete. Bei schwacher Vergrösserung erscheinen sie als kleine, runde, weissgelbliche Scheiben, deren Inhalt feinkörnig war. Nach 8—10 Tagen trat eine langsame Verflüssigung der umliegenden Gelatine ein. In Molkengelatinestichkulturen bildet sich eine trichterförmige Verflüssignng, welche sich nie bis zur Wandung des Gläschens ausbreitet. Oben bleibt die verflüssigte Gelatine klar und unten zeigt sie einen mehlartigen weissen Bodensatz. Längs des Impfstiches kann man vor der Verflüssigung kein deutliches oder nur ein sehr schwaches Wachstum beobachten. Auf Gelatine mit verschiedenem Zuckerzusatz ist das Wachstum gleich dem auf gewöhnlicher Gelatine.

Digitized by Google

3) Agarkulturen. Auf Agarplatten bei hohem Wärmegrad zeigt es in 24 Stunden kleine weisse Kolonieen. Auf gewöhnlichen Agarstichkulturen bildet sich längs des Stichkanals ein mattweisses Wachstum. An dem oberen Ende des Impfstiches wächst eine schwache weisse Kolonie. Auf dem schrägem Agar bildete sich ein mattweisses Wachstum. Auf Agarstichkulturen mit verschiedenem Zuckerzusatz bildet sich längs des Stichkanals ein kräftiges weisses Wachstum in 24 Stunden bei 42° C. Am oberen Ende zeigt sich eine deutliche weisse Auflage.

4) Auf Kartoffeln bildet es eine schwache schmutzigweisse, matte Auflagerung.

5) Flüssige Nährböden. In Bouillonkultur bei 42° C. zeigte sich nach 12 Stunden eine geringe Trübung. Nach ein oder zwei Tagen hatte sich in der Flüssigkeit eine wolkenartige Trübung mit einem weissen pulverartigen Bodensatz gebildet. Hautbildung an der Oberfläche trat nicht ein. Der Organismus verursacht in Nägelischer Pepton-Nährsalzlösung mit verschiedenem Zuckerzusatz eine durchsichtige, wolkige Trübung, ohne Oberhaut und mit wenig Bodensatz.

Um die Säurebildungen des Micrococcus zu bestimmen, wurde eine Nährsalzlösung mit verschiedenen Zuckerarten versetzt, mit Micrococcus geimpft, und dann nach Verlauf verschiedener Zeit die Säuremenge durch Titration bestimmt und zwar mit folgendem Resultat. Alle Kulturen wurden bei einem Wärmegrad von 42° C. gehalten.

Nach 3 Tagen wurden auf je 10 cm^3

	der Kulturflüssigkeit	der ungeimpften Nährlösung
bei Milchzucker	1.2 cm^3	0.7 cm^3
„ Rohr- „	1.4 „	0.5 „
„ Trauben-„	1.3 „	0.7 „
„ Lävulose	1.1 „	0.6 „

Digitized by Google

bei Maltose	1.5 cm³	0.7 cm³
„ Stärke	1.1 „	1.1 „
Zuckerfrei	0.5 „	0.5 „

$\frac{N}{10}$ Natronlauge verbraucht.

Nach 7 Tagen wurden auf je 10 cm³

	der Kulturflüssigkeit	der ungeimpften Nährlösung
bei Milchzucker	1.1 cm³	0.6 cm³
„ Rohr- „	1.6 „	0.7 „
„ Trauben-„	1.8 „	0.8 „
„ Lävulose	1.4 „	0.7 „
„ Maltose	1.3 „	0.5 „
„ Stärke	1.0 „	1.0 „
Zuckerfrei	0.6 „	0.6 „

$\frac{N}{10}$ Natronlauge verbraucht.

Nach 14 Tagen wurden auf je 10 cm³

	der Kulturflüssigkeit	der ungeimpften Nährlösung
bei Milchzucker	1.2 cm³	0.6 cm³
„ Rohr- „	1.6 „	0.7 „
„ Trauben- „	1.5 „	0.6 „
„ Lävulose	1.4 „	0.9 „
„ Maltose	1.5 „	0.6 „
Zuckerfrei	0.6 „	0.6 „

$\frac{N}{10}$ Natronlauge verbraucht.

Nach 21 Tagen wurden auf je 10 cm³

	der Kulturflüssigkeit	der ungeimpften Nährlösung
bei Milchzucker	1.5 cm³	0.6 cm³
„ Rohr- „	1.9 „	0.8 „
„ Trauben-„	1.9 „	0.6 „
„ Lävulose	1.8 „	0.8 „
„ Maltose	1.6 „	0.6 „
Zuckerfrei	0.5 „	0.5 „

$\frac{N}{10}$ Natronlauge verbraucht.

Digitized by Google

Aus obigen Zahlen ersieht man, dass der Micrococcus die verschiedenen Zuckerarten in ziemlich gleicher Weise vergährt, während stärkehaltiger und zuckerfreier Nährboden nicht unter Säurebildung angegriffen wird.

Zur Bestimmung der Stoffwechselproducte haben wir eine vier Wochen alte Kultur in Nährsalzlösung mit 2 % Traubenzuckerzusatz benutzt. Die Untersuchung, nach bekannter Weise ergab Alkohol und kleine Mengen rechtsdrehender Milchsäure. Die flüchtigen Säuren wurden nach Duclaux als Essig- und Valeriansäure bestimmt und zwar im Verhältnis von 1 Teil Valerian- zu 9 Teilen Essigsäure.

Um die Umwandlungsproducte kennen zu lernen, welche dieser Micrococcus aus den Eiweissstoffen der Milch hervorbringt, benutzten wir eine Kultur von 500 $^{cm\,3}$ abgerahmter Milch, welche nach Impfung drei Wochen lang im Brutschrank bei 40° C. gestanden hatte. Die Kultur reagierte stark sauer, und etwas von dem Koagulum war aufgelöst. Dann wurden nach erwähnter Methode die Umwandlungsproducte mit folgendem Resultat festgestellt:

Gesammteiweissgehalt der Kontrolmilch = 3.32 %

Kultur { Casein, unverändert = 1.27 %
Peptonartige Eiweissstoffe u. Albumin = 0.78 %
Eiweisszersetzungsproducte = 1.27 %

Die weitere Untersuchung der Kultur zeigte das Vorhandensein von Alkohol und Milchsäure in geringer Menge; auch ergab sich eine deutliche Biuretreaction für Pepton.

Das Temperaturoptimum liegt bei ca. 40° C.

Der Micrococcus (IV) zeigte grosse Aehnlichkeit mit Micro. acidi paralactici liquefaciens K o z a i [1]). Auch dieser erscheint meist paarweise. Er besitzt freilich eine Kapsel,

1) Zeitschr. für Hyg. 1889. Bd. 31. p. 337.

Digitized by Google

doch ist dies eine Eigenthümlichkeit, die bei manchen Arten sehr variabel zu sein scheint. Er bildet keine Sporen; färbt sich leicht, auch nach Gram; und ist unbeweglich. Auf Bouillon zeigte er bei Brutwärme starke Trübung, weisses Sediment, keine Hautbildung. Auf Gelatineplatten: Langsames Wachstum runder körniger Kolonieen. In Gelatinestichkultur: Durch Erweichung der Gelatine von oben her entsteht ein kürbisflaschenförmiger flüssiger Bezirk, Flüssigkeit klar, Sediment. Stichkultur in Zuckeragar: Bei Bruttemperatur entsteht innerhalb 24 Stunden längs des Stichkanals ein weisser Streifen, der bis zum Boden reicht, und auf der Oberfläche ein weisser, feuchter Belag. Milchkultur: Bei Brutwärme wurde erst nach 2 bis 3 Tagen (Micro. IV nach 30 Stunden) koaguliert unter Ausscheidung eines Serums. In Milch bildet er Rechtsmilchsäure und peptonisiert teilweise das Koagulum; auf Vorhandensein flüchtiger Säuren wurde nicht geprüft. Er scheint kräftiger Säure zu bilden als Micrococcus IV.

Obgleich die beiden Organismen, Micrococcus IV und Micro. acidi paralactici liquefeciens Halensis Kozai, nicht identisch sein mögen, so sind sie sicherlich nah verwandt und müssen Arten derselben Gruppe sein.

Da die Organismen No. I, II und III, welche am häufigsten und zahlreichsten in den bei 40—44° spontan zersetzten Milchproben gefunden wurden, sämmtlich bei ihrem Wachstum in Milch vorwiegend flüchtige Säuren, Milchsäure aber nur spurenweise bilden; und da Micrococcus No. IV, das neben flüchtigen Säuren etwas mehr Milchsäure als die andern erzeugt, relativ viel weniger zahlreich als jene und auch nicht in jeder Milch vorkam: so hat Verf. Ursache, zu glauben, dass bei der freiwilligen

Digitized by Google

Zersetzung der Milch bei 40—44° in der Regel mehr flüchtige Säuren als Milchsäure entstehen dürften. Indessen möchte er diese Annahme nicht ohne Vorbehalt aussprechen, weil er es unterlassen hat, die spontan zersetzten Milchproben selbst, welche zu den bakteriologischen Untersuchungen dienten, einer chemischen Analyse zu unterwerfen. Dass diese Milchproben ausser den beschriebenen Formen vielleicht noch andere, mehr Milchsäurebildende Arten enthielten, welche auf den Kulturplatten des Verfassers nicht zur Entwickelung gelangten, wäre ja wohl denkbar. Uebrigens sei daran erinnert, dass Blumenthal[1]) bei der chemischen Untersuchung einiger bei 39—41° freiwillig geronnener Milchproben zwar flüchtige Säuren aber keine Milchsäure gefunden hat. Diese Mittheilungen dürfen aber wohl aus dem Grunde nicht als ganz zuverlässig angesehen werden, weil Blumenthal auch in den von ihm untersuchten Milchproben, die bei Zimmertemperatur, also unter den gewöhnlichen Verhältnissen geronnen waren, keine Milchsäure, sondern nur flüchtige Säuren und Bernsteinsäure gefunden zu haben angiebt, was doch mit allen sonstigen Erfahrungen in gar zu auffälligem Widerspruch steht. Denn bekanntlich hat man in freiwillig geronnener Milch bisher immer sehr reichliche Mengen Milchsäure nachweisen können. Ueber die neueren hierauf bezüglichen Untersuchungen sei noch folgendes bemerkt.

Günther und Thierfelder[2]) fanden in vielen spontan bei einer Wärme unter 30° geronnenen Milchproben ausschliesslich die optisch inactive Milchsäure, in anderen ein Gemisch von inaktiver Milchsäure und Rechtsmilchsäure, in wenigen die Rechtsmilchsäure allein.

---

1) Virchow's Archiv. Bd. 146. p. 65. 1896.
2) Archiv f. Hygiene. 1895. Bd. XXV.

Digitized by Google

Kozai[1]) fand dann aber in Milch, die bei Zimmertemperatur geronnen war, immer ganz vorwiegend Rechtsmilchsäure, öfters mit Beimengung von wenig inaktiver Säure. Neuerdings berichten denn auch Günther und Thierfelder[2]) dass sie bei der Untersuchung von 8 spontan bei 18° resp. 20 und 28° geronnenen Milchproben fast überall reine Rechtsmilchsäure, nur in wenigen Proben vermengt mit etwas inactiver Säure fanden. Es ist also nach den bisher vorliegenden Beobachtungen sehr wahrscheinlich, dass bei der unter den gewöhnlichen Verhältnissen, d. h. bei Temperaturen unter 30°, stattfindenden spontanen Milchgerinnung immer vorwiegend die Rechtsmilchsäure entsteht; und dieses ist im Einklang mit dem Umstand, dass das als gewöhnlicher Erreger der spontanen Milchgerinnung geltende Bacterium lactis acidi allein die rechtsdrehende Milchsäure aus dem Milchzucker abspaltet. Das gelegentliche Auftreten von inaktiver Milchsäure bei der spontanen Milchgerinnung haben Leichmann und Kozai zu erklären versucht. Leichmann[3]) fand in mehreren spontan bei einer Wärme unter 30° geronnenen Milchproben neben dem Rechtsmilchsäure bildenden Bacterium lactis acidi einen Linksmilchsäure bildenden Micrococcus in nicht unbeträchtlicher Zahl; wachsen diese beiden Arten gleichzeitig in der Milch, so müssen gleiche Mengen der entstandenen Rechts- und Linksmilchsäure zusammen sich wie inactive Milchsäure verhalten. Ferner constatierte Leichmann[4]) auch gelegentlich das Vorkommen Linksmilchsäure bildender Formen des Bacterium lactis aërogenes in saurer Milch, und er glaubt, dass das mitunter beob-

1) Dissertation, Halle. 1899.
2) Hygienische Rundschau. 1900 No. 16. p. 769.
3) Centralbl. für Bac. II abt. 1896. p. 777.
4) Centralbl. für Bac. II abt. 1899. p. 344.

Digitized by Google

chtete Auftreten von inaktiver Milchsäure neben oder tatt der Rechtsmilchsäure bei der spontanen Milchgerinnung uf das Zusammenwirken einiger bestimmter Linksmilchsäure bildender Arten mit dem Bacterium lactis acidi zurückzuführen sei. Dieser Anschauung schliesst sich Kozai an.

In Milch, die bei 36—39° geronnen war, fand Kozai [1]) immer vorwiegend oder ausschliesslich inaktive Milchsäure und vermochte er diese Befunde sehr einleuchtend durch die Beobachtung zu erklären, dass in seinen bei 36—39° geronnenen Milchproben neben dem Rechtsmilchsäure bildenden Bacterium lactis acidi der Linksmilchsäure bildende Bacillus acidi laevolactici Halensis Kozai reichlich gewachsen war. Die von Kozai auf Grund seiner an 4 Milchproben gemachten Befunde gehegte Vermutung, dass bei spontaner Milchsäuerung bei 36—39° gewöhnlich die inaktive Milchsäure entstehen möchte, hat sich bis jetzt nicht bestätigt; denn Günther und Thierfelder [2]) constatierten neuerdings bei der Untersuchung von acht bei 37° spontan geronnenen Milchproben nur in einer reine inaktive Milchsäure, fünf Proben enthielten reine Rechtsmilchsäure und zwei Proben ein Gemisch von rechtsdrehender mit inactiver Milchsäure.

Was die bei 44—52° erfolgende spontane Milchzersetzung betrifft, so hat Leichmann [3]) nur soviel festgestellt, dass von den dabei vorwiegend beteiligten Organismen der eine, am häufigsten auftretende, Micrococcus lactis acidi Rechtsmilchsäure, der andere, Bacillus lactis acidi, die

---

1) Dissertation Halle 1899.

2) Weitere Untersuchungen z. Frage der spontanen Milchgerinnung. Hygienische Rundschau 1900 No. 16. p. 769.

3) Milchzeitung 1896. No. 5.

Digitized by Google

Linksmilchsäure bildet: sodass, wenn beide gemeinsam in der Milch wachsen, was öfters beobachtet wurde, wechselnde Mengen auch der inaktiven Milchsäure auftreten müssen.

Bacterien, welche die inaktive Milchsäure unmittelbar aus dem Milchzucker abspalten, wie man sie in grösserer Zahl kennt, hat bisher nur Epstein[4]) vereinzelt in Milch und in saurem Rahm aufgefunden.

4) Archive f. Hyg. 1900. Bd. 37 Heft 4.

Digitized by Google

Lebenslauf.

Ich Meade Ferguson wurde am 17. März 1869 als Sohn des Landwirts Henry C. Ferguson und seiner Gattin Fanny geb. Goin, zu Appomattox, Virginia, U.S.A. geboren. Ich besuchte dort die „Public School" und die „Appomattox-Hochschule". Vom Frühjahr 1888 bis Herbst 1892 war ich in der Praxis gewesen. Vom Herbst 1892 bis Sommer 1896 war ich auf Virginia Polytechnic Institute, und erhielt den Grad B. S. Dann war ich ein Jahr als Assistent in der Virginia Versuchstation beschäftigt. Vom Herbst 1897 habe ich meine Studien weiter geführt und bekam 1899 von Va. Poly. Inst. den Grad M. S. Von Michaelis 1899 bis jetzt gehöre ich der Georgia-Augusta-Universität zu Göttingen an. Während meiner Studienzeit in Göttingen habe ich Vorlesungen und Practica bei den folgenden Professoren gehört: Berthold, E. v. Esmarch, Fleischmann, Koch, E. Meyer, Peter, Riecke, von Seelhorst und Tollens.

Allen diesen meinen hochverehrten Lehrern sei an dieser Stelle der verbindlichste Dank ausgedrückt.

Digitized by Google

Digitized by Google

Photomount
Pamphlet
Binder
Gaylord Bros.
Makers
Stockton, Calif.
PAT. JAN. 21, 1908

G44355 SF253
F45

UNIVERSITY OF CALIFORNIA LIBRARY

Digitized by Google

Digitized by Google